

## Determinação de proteínas -

### MÉTODO DE BIURETO

#### Princípio

O cobre, em meio alcalino, reage com proteínas formando um complexo quadrado planar com a ligação peptídica. O produto de reação apresenta duas bandas de absorção, uma em 270 nm e outra em 540 nm. Apesar da banda na região de 270 nm aumentar em seis vezes a sensibilidade do método do biureto<sup>14</sup>, a banda na região de 540 nm é a mais utilizada para fins analíticos, porque diversas substâncias, normalmente presentes na maioria dos meios analisados, absorvem na região de 270 nm causando muita interferência no método.

#### Material e métodos:

• Espectrofotômetro, • Estante com 8 tubos de ensaio, reagente de Biureto (composto este por uma mistura de  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Cu}(\text{OH})_2$  e tartarato de sódio e potássio ( $\text{KNaC}_4\text{H}_4\text{O}_6 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ ), pipetas automática

#### PROCEDIMENTO ANALÍTICO

1. Em 8 tubos de ensaio, enumerados de 0 a 8, pipetar os componentes conforme o quadro abaixo.
2. Após a adição do reativo de biureto, agitar os tubos e deixar em repouso por 10 minutos. A coloração púrpura formada é indicativa da presença de proteínas.
3. Fazer leitura de absorbância em 540 nm no espectrofotômetro.
5. Com os dados obtidos dos tubos 0 a 6, fazer um gráfico contendo no eixo Y os valores de absorbância e no eixo X as concentrações de albumina expressas em mg/tubo.
6. Em seguida determinar o teor de proteína da clara de ovo. O Valor de absorbância lido deve estar dentro dos valores da curva padrão. Caso seja necessário prepare uma diluição da amostra e refaça o teste de biureto até que consiga determinar o teor de proteína presente na clara de ovo.

#### 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

1. Completar tabela;
2. Gráfico com os valores de absorbância (y) e concentração (x);
3. Determinar o valor da concentração de proteína através do gráfico e dar o resultado em mg/mL ;
4. Compare o valor obtido com o valor publicado na literatura. É a clara de ovo uma boa fonte protéica? Considere que um adulto necessita de 0,8 g de proteína por kg de massa corporal.

Solução padrão de albumina : 10 mg/ml

Tubo (no)	água destilada (ml)	Solução de albumina (ml)	Albumina (mg/tubo)	Reativo de biureto (ml)	Abs 540 nm
0	2	0		1	
1	1,9	0,1		1	
2	1,85	0,15		1	
3	1,8	0,2		1	
4	1,75	0,25		1	
5	1,7	0,3		1	
6	1,65	0,35		1	
7	1,5 ml	0,5 ml de clara de ovo		1	
8	1,8 ml	0,2 ml de clara de ovo		1	